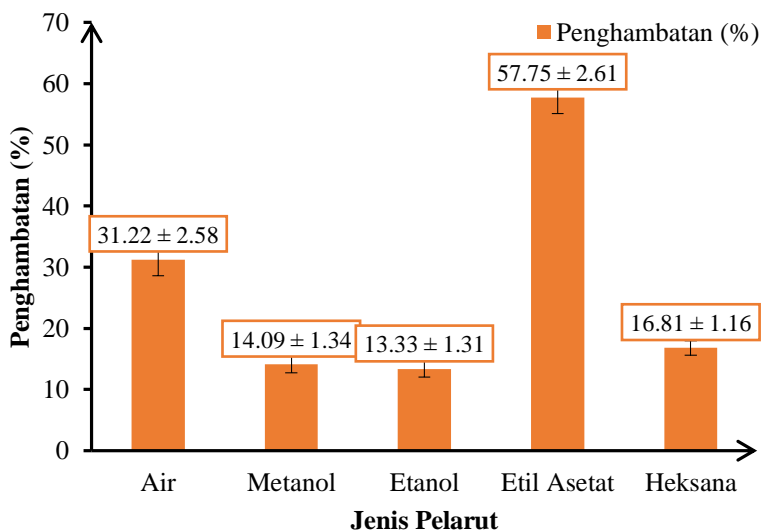


BAB V HASIL DAN PEMBAHASAN

Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui pengaruh perbedaan jenis pelarut terhadap kemampuan ekstrak daun beluntas (*Pluchea indica* Less.) dalam menghambat oksidasi gula. Parameter yang dianalisa adalah kemampuan ekstrak daun beluntas dalam menghambat oksidasi gula dengan metode DNS. Mekanisme penghambatan oksidasi gula oleh ekstrak daun beluntas ada dua, yaitu menghambat terjadinya hidrolisis pati (polimer) menjadi glukosa (monomer) dan menghambat terjadinya reaksi redoks antara glukosa dengan DNS.

Tepung daun beluntas (*Pluchea indica* Less.) yang digunakan dalam penelitian memiliki kadar air sebesar $12,43 \pm 0,13\%$ untuk basis basah dan $14,19 \pm 0,17\%$ untuk basis kering yang didapat dari hasil pengujian dengan lima ulangan dan dapat dilihat pada Lampiran B.1. Persentase kadar air tersebut didukung oleh penelitian yang telah dilakukan oleh Widyawati, dkk. (2011) dengan komposisi kadar air sebesar 14,29% untuk basis kering. Penentuan kadar air tepung daun beluntas dalam penelitian ini ditentukan dengan oven vakum suhu 70°C dengan tekanan 0,75 bar. Hal ini dilakukan dengan pertimbangan untuk meminimalkan kesalahan kadar air yang terukur karena hilangnya sejumlah senyawa volatil. Traithip (2005) dan Luger *et al.* (2000) dalam Widyawati dkk. (2011) menyatakan bahwa senyawa volatil yang terdapat dalam daun beluntas antara lain boehmeril asetat, HOP-17 (21)-en 3β -asetat, linaloil glukosida, linaloil apiosil glukosida, linaloil hidroksi glukosida, plusheosida C, cuauhtermone, 3-(2'-3'-diasetoksi-2'-metilbutiril), plucheol A, plucheol B, plucheosida A, plucheosida B, plucheosida E, pterocarptriol, seskuiterpen, monoterpen, dan triterpen.

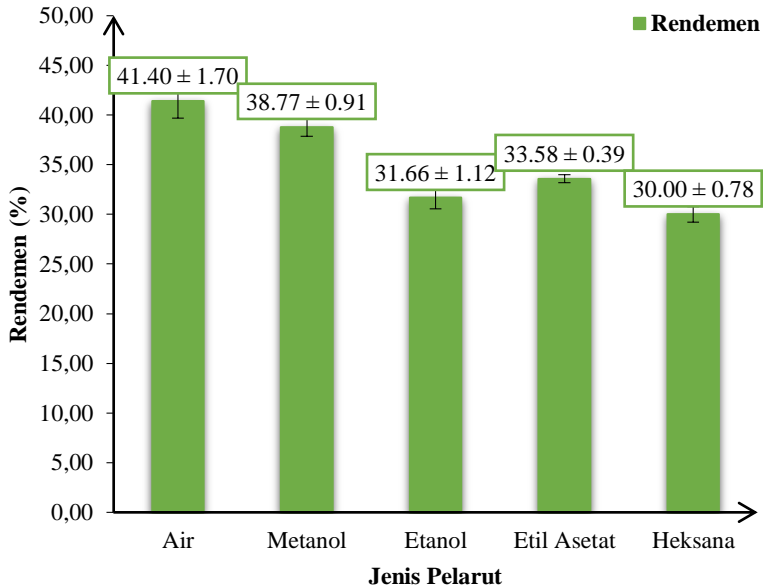
Tepung daun beluntas diekstrak dengan menggunakan berbagai macam pelarut yang memiliki tingkat kepolaran yang berbeda, yaitu air, metanol, etanol, etil asetat, dan heksana menunjukkan bahwa kemampuan antihiperglikemik (kemampuan ekstrak dalam menghambat oksidasi gula) dari ekstrak etil asetat paling tinggi ($57,75 \pm 2,61\%$), yang kemudian diikuti oleh air ($31,22 \pm 2,58\%$), heksana ($16,81 \pm 1,16\%$), metanol ($14,09 \pm 1,34\%$), dan etanol ($13,33 \pm 1,31\%$). Hal ini ditunjukkan pada Gambar 5.1. Data dan perhitungan penghambatan (%) dapat dilihat pada Lampiran B.6.



Keterangan: Rata-rata \pm SD diperoleh melalui pengujian sebanyak lima kali ulangan
 Gambar 5.1. Persen Penghambatan Oksidasi Gula Ekstrak Beluntas dengan Berbagai Jenis Pelarut

Hal ini diduga bahwa pada ekstrak etil asetat yang merupakan pelarut semi polar terdapat banyak senyawa-senyawa fitokimia yang berukuran besar atau dalam bentuk polimer (kompleks) dibandingkan dengan ekstrak pelarut lainnya (Soetarno dkk., 1999). Senyawa yang berukuran besar atau dalam bentuk polimer ini merupakan senyawa yang belum murni, seperti halnya

flavonoid (Ramadhani, 2013). Flavonoid yang berikatan dengan gula cenderung larut dalam air (polar), sedangkan aglikon yang kurang polar seperti isoflavon, flavonon, flavon, dan flavonol cenderung lebih mudah larut dalam pelarut semi polar (Pramudia, 2008 dalam Naufalin dan Rukmini, 2010).



Keterangan: Rata-rata \pm SD diperoleh melalui pengujian sebanyak lima kali ulangan
 Gambar 5.2. Rendemen Ekstrak Beluntas dengan Berbagai Jenis Pelarut

Hasil rendemen pada Gambar 5.2. menunjukkan bahwa rendemen ekstrak yang menyebabkan kandungan senyawa bioaktif dalam ekstrak etil asetat (semipolar) lebih besar dibandingkan ekstrak etanol (polar). Pelarut air memiliki nilai rendemen yang tertinggi, yaitu sebesar $41,40 \pm 1,7\%$ dan diikuti dengan pelarut metanol, etil asetat, etanol, dan heksana, masing-masing sebesar $38,77 \pm 0,91\%$; $33,58 \pm 0,39\%$; $31,66 \pm 1,12\%$; dan $30,00 \pm 0,78\%$. Hal ini menunjukkan bahwa sebagian besar senyawa bioaktif dalam

ekstrak daun beluntas bersifat polar dan hanya 33,58% yang bersifat semipolar. Data dan perhitungan persen rendemen dapat dilihat pada Lampiran B.2.

Dugaan jenis senyawa bioaktif polimer yang banyak terdapat dalam ekstrak etil asetat didukung oleh penelitian Dai dan Mumper (2010) yang menyatakan aseton sebagai pelarut semipolar untuk mengekstrak tepung apel. Data menyatakan bahwa senyawa polifenol dan flavonoid terpolimerisasi yang terdapat dalam ekstrak aseton tersebut. Hal ini didukung dengan data hasil uji fitokimia pada Tabel 5.1. yang menunjukkan bahwa aktivitas antihiperglikemik ekstrak etil asetat disebabkan adanya kontribusi dari senyawa fitokimia, seperti alkaloid, fenolik, flavonoid, sterol, dan saponin yang cenderung bersifat polar. Data pengamatan uji fitokimia ekstrak daun beluntas dapat dilihat pada Lampiran B.3.

Tabel 5.1. Identifikasi Senyawa Fitokimia Ekstrak Daun Beluntas

Senyawa Fitokimia	Air	Metanol	Etanol	Etil Asetat	Heksana
Alkaloid	+++++++	++++++	++++	+++	+
Fenolik	+++	+++++	++++	++	+
Flavonoid	+++	+++++	++++	++	+
Triterpenoid	-	-	-	-	-
Sterol	-	+++	++++	+++	++
Saponin	++	++++	+	+	-
Tanin	+	++++	++	-	-
Kardiak Glikosida	+++++	+++	++	+	-

Keterangan: Tanda (+) menunjukkan intensitas warna, semakin banyak tanda (+) maka semakin kuat warna. Tanda (-) menunjukkan tidak terdeteksi.

Hasil identifikasi senyawa fitokimia ekstrak daun beluntas yang diperoleh menunjukkan bahwa senyawa fitokimia terbanyak ditemukan pada ekstrak metanolik. Metanol merupakan pelarut polar yang dapat mengekstrak

senyawa dengan berat molekul rendah, tingkat kepolaran sedang sebab sifat kelarutannya yang luas (Lin *et al.*, 2009 dalam Widyawati dkk., 2010), sedangkan senyawa dengan berat molekul tinggi lebih cenderung larut dalam ekstrak aseton (satu golongan dengan etil asetat) (Dai dan Mumper, 2010).

Senyawa alkaloid umumnya merupakan senyawa non-polar, sedangkan kelompok pseudoalkaloid dan protoalkaloid larut dalam air (Lenny, 2006 dalam Sudirman, 2011). Alkaloid lebih banyak ditemukan pada pelarut polar karena golongan senyawa alkaloid yang berpotensi sebagai antioksidan merupakan senyawa polar yang akan terekstraksi pada pelarut yang bersifat polar (Suratmo, 2009 dalam Sudirman, 2011).

Senyawa fenol dan flavonoid merupakan senyawa yang dapat larut dalam pelarut polar hingga non-polar. Senyawa fenol dan flavonoid yang terdapat pada semua ekstrak memiliki kemampuan sebagai antioksidan. Hal ini didukung oleh hasil penelitian Widyawati dkk. (2010; 2011) bahwa komponen polifenol dan flavonoid daun beluntas memiliki aktivitas antioksidan.

Senyawa triterpenoid merupakan golongan senyawa volatil. Hasil pengujian tidak ditemukan adanya senyawa triterpenoid pada semua ekstrak. Hal ini disebabkan senyawa triterpenoid telah volatil (menguap) selama proses ekstraksi berlangsung.

Senyawa sterol pada pengujian ini terdeteksi pada ekstrak metanol, etanol, etil asetat, dan heksana, dan tidak terdeteksi pada ekstrak air. Hal ini disebabkan prekursor pembentukan sterol bersifat non-polar, yaitu kolesterol (Dey dan Harborne, 1997).

Senyawa saponin memiliki sifat cenderung larut dalam polar. Berdasarkan pengujian, senyawa saponin terdeteksi pada pelarut polar dan semipolar, namun tidak terdeteksi pada pelarut non-polar.

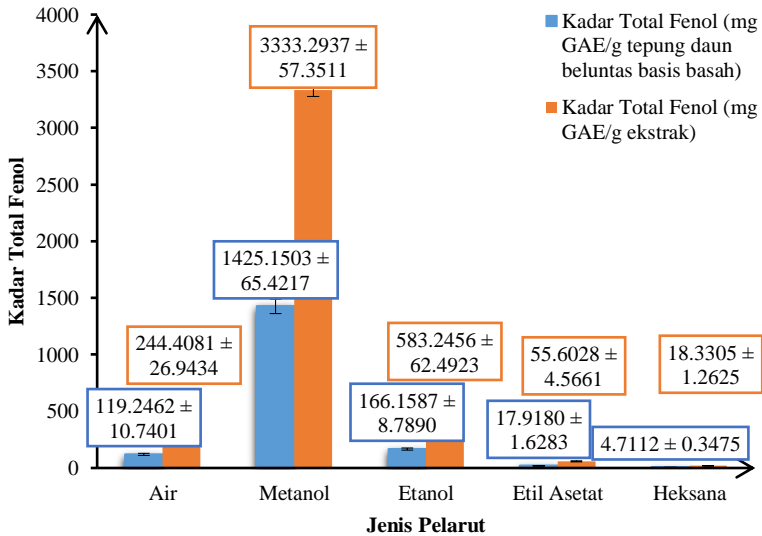
Tanin adalah senyawa yang cenderung polar sehingga pelarut metanol dan etanol dapat mengekstrak senyawa tanin dengan optimal. Hal ini diduga karena besarnya konstanta dielektrik (ϵ) dari metanol dan etanol tidak berbeda jauh. Hasil pengujian menunjukkan bahwa senyawa tanin terdeteksi pada ekstrak polar dan tidak terdeteksi pada ekstrak semipolar maupun non-polar.

Identifikasi senyawa glikosida dilakukan dengan uji Fehling. Senyawa fitokimia dalam daun biasanya ditemukan dalam struktur bebas atau terikat secara glikosida maupun teresterifikasi dan dengan bertambahnya tingkat ketuaan daun maka semakin banyak ditemukan senyawa fitokimia dalam struktur glikosida yang terdapat dalam membran sel daun. Senyawa ini yang membentuk struktur yang kompleks dengan karbohidrat (arabinosa, glukosa, dan xilosa) (Schaller, 2003 dan Boukes *et al.*, 2008 dalam Widyawati dkk., 2011).

Senyawa fitokimia jenis fenolik dan flavonoid dalam ekstrak etil asetat diduga kuat punya peran dalam aktivitas antioksidan. Hasil ini didukung oleh hasil uji total fenol (Gambar 5.3.) dan total flavonoid (Gambar 5.4.) yang menunjukkan hasil serupa.

Pengujian total fenol bertujuan untuk mengetahui jumlah fenol yang terdapat pada sampel. Pengujian total fenol ditentukan secara spektrofotometri dengan menggunakan pereaksi Folin-Ciocalteu (FC) yang menggunakan prinsip reaksi reduksi-oksidasi dan asam galat digunakan sebagai larutan standar (baku pembanding). Perbedaan tingkat kepolaran pelarut menentukan struktur kimia senyawa fenol yang terekstrak. Pengujian total fenol sangat tergantung pada struktur kimianya. Senyawa fenol yang mempunyai gugus fungsi hidroksil yang banyak atau dalam kondisi bebas (aglikon) akan dihasilkan kadar total fenol yang tinggi (Deore *et al.*, 2009 dalam Widyawati dkk., 2010). Pengujian total fenol bersifat tidak spesifik

hanya pada polifenol, tetapi banyak senyawa lain yang dapat bereaksi dengan reagen FC yang akan memberikan hasil yang lebih tinggi (Prior *et al.*, 2005). Komponen fenolik yang dikenal sebagai antioksidan primer dari tanaman bersifat polar (Larson, 1988 dalam Katdja dkk., 2009).



Keterangan: Rata-rata ± SD diperoleh melalui pengujian sebanyak lima kali ulangan
 Gambar 5.3. Kadar Total Fenol Ekstrak Beluntas dengan Berbagai Jenis Pelarut

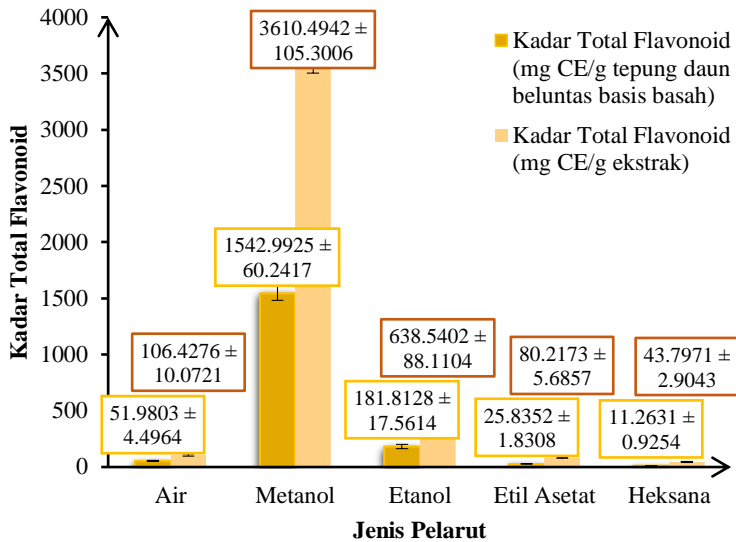
Hasil kadar total fenol pada penelitian ini dapat dilihat pada Gambar 5.3., data dan perhitungan pengujian total fenol dapat dilihat pada Lampiran B.4. Data menunjukkan total fenol tertinggi diperoleh dari ekstrak metanol, yaitu sebesar 1.425,1503 ± 65,4217 mg GAE/g tepung daun beluntas basis basah atau 3.333,2937 ± 57,3511 mg GAE/g ekstrak yang kemudian diikuti dengan ekstrak etanol, air, etil asetat, dan heksana masing-masing sebesar 166,1587 ± 8,7890 atau 583,2456 ± 62,4923; 119,2462 ± 10,7401 atau 244,4081 ± 26,9434; 17,9180 ± 1,6283 atau 55,6028 ± 4,5661; dan 4,7112 ±

0,3475 mg GAE/g tepung daun beluntas basis basah atau $18,3305 \pm 1,2625$ mg GAE/g ekstrak.

Total flavonoid terukur sebanding dengan kadar total fenol. Pengujian total flavonoid ditentukan oleh reaktivitasnya terhadap reagen AlCl_3 dan NaNO_2 dalam kondisi basa kuat (NaOH) yang ditandai dengan terbentuknya kompleks warna oranye hingga merah. Kadar total flavonoid dapat menjadi indikator keefektifannya sebagai penangkap radikal bebas (Lugasi *et al.*, 2003 dan Tapas *et al.*, 2008 dalam Widyawati dkk., 2010) karena dapat menghasilkan radikal fenoksil yang terstabilkan oleh efek resonansi dari cincin aromatis (Lin *et al.*, 2009 dalam Widyawati dkk., 2010). Efektifitas flavonoid sebagai penangkap radikal bebas ditentukan oleh struktur (katekol) ortohidroksi pada cincin B, ikatan rangkap pada atom C2-C3 yang terkonjugasi dengan gugus fungsi C4-okso, gugus OH pada C3 di cincin C dan gugus OH pada C5 di cincin A (Lugasi *et al.*, 2003 dan Tapas *et al.*, 2008 dalam Widyawati dkk., 2010). Kombinasi gugus C3-OH dan C5-OH dengan C4-karbonil dan ikatan rangkap C2-C3 dapat meningkatkan aktivitas penangkap radikal bebas (Amic *et al.*, 2003).

Hasil kadar total flavonoid pada penelitian ini dapat dilihat pada Gambar 5.4., sedangkan data dan perhitungan pengujian total flavonoid dapat dilihat pada Lampiran B.5. Data menunjukkan total flavonoid tertinggi diperoleh dari ekstrak metanol yaitu sebesar $1.542,9925 \pm 60,2417$ mg CE/g tepung daun beluntas basis basah atau $3.610,4942 \pm 105,3006$ mg CE/g ekstrak yang kemudian diikuti dengan ekstrak etanol, air, etil asetat, dan heksana masing-masing sebesar $181,8128 \pm 17,5614$ atau $638,5402 \pm 88,1104$; $51,9803 \pm 4,4964$ atau $106,4276 \pm 10,0721$; $25,8352 \pm 1,8308$ atau $80,2173 \pm 5,6857$; $11,2631 \pm 0,9254$ mg CE/g tepung daun beluntas basis basah atau $43,7971 \pm 2,9043$ mg CE/g ekstrak. Hal ini membuktikan adanya

korelasi antara senyawa fitokimia yang terekstrak dalam tiap pelarut dan kadar total fenol yang dihasilkan dengan pola pada kadar total flavonoid.



Keterangan: Rata-rata ± SD diperoleh melalui pengujian sebanyak lima kali ulangan
 Gambar 5.4. Kadar Total Flavonoid Ekstrak Beluntas dengan Berbagai Jenis Pelarut

Hasil pengujian kemampuan ekstrak daun beluntas dalam menghambat oksidasi gula dapat dikatakan tidak sejalan dengan pengujian total fenol maupun total flavonoid sehingga dapat diduga bahwa mekanisme ekstrak daun beluntas mampu menghambat oksidasi gula adalah dengan cara menghambat terjadinya reaksi hidrolisis yang mampu memecahkan pati menjadi glukosa. Hal ini disebabkan adanya dugaan bahwa kombinasi senyawa polimer (polifenol) dengan pati melalui ikatan hidrogen yang terjadi antara gugus H dari senyawa polifenol dengan gugus O dari pati sehingga efektif dalam menghambat peristiwa hidrolisa pati menjadi gula sederhana dan menghambat sejumlah gula sederhana yang mampu berikatan dengan DNS rendah.